甘蔗脱毒健康种苗原苗主茎重复扦插快繁技术

陈荣发，丘立杭，周慧文，周忠凤，翁梦苓，黄杏，李杨瑞，范业赓，吴建明*

（广西壮族自治区农业科学院甘蔗研究所/广西甘蔗遗传改良重点实验室/农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室，南宁 530007）

摘要：为解决目前甘蔗健康种苗生产成本高、生产周期过长、繁育速度慢等问题，该研究以桂糖 08-120 脱毒健康种苗原苗为材料，在甘蔗健康种苗原苗发生分蘖后，剪下原苗主茎进行 2 次重复扦插移栽技术研究。结果表明：甘蔗健康种苗原苗主茎全埋种植成活率 48.20%，主茎斜插种植成活率 95.10%；健康种苗原苗、主茎第一次扦插移栽和主茎第二次扦插移栽的移栽成活率分别为 97.67%、96.33 和 96.00%，分蘖数分别为 15 条、14 条和 13 条，株高分别为 157.67、127.00 和 123.84 cm，茎径分别为 25.52、25.31 和 25.23 mm，有效茎数分别为 87 245、97 465 和 93 960 条 •hm^{-2}，产量分别为 49 294.5、52 126.00 和 49 948.50 kg • hm^{-2}，主茎第一次扦插移栽和主茎第二次扦插移栽的株高低于原苗种植，但分蘖数、茎径、有效茎数和产量与原苗种植差异不显著，健康种苗原苗主茎扦插移栽与健康种苗原苗移栽的甘蔗产量效应相差不大；原苗主茎重复扦插快繁成本约为一株 0.47 元，显著低于原苗常规繁种成本。该研究结果为甘蔗健康种苗降低成本和加快繁育速度提供了技术支撑。

关键词：甘蔗，健康种苗，田间繁育，扦插移栽

中图分类号：Q943　　**文献标识码：**A

开放科学（资源服务）标识码（OSID）：



Techniques for repeated cutting and transplanting of main stem of virus-free sugarcane plantlets propagation

CHEN Rongfa, QIU Lihang, ZHOU Huiwen, ZHOU Zhongfeng, WENG Mengling, HUANG Xing, LIYangrui, FAN Yuegeng, WU Jianming*

(*Sugarcane Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences* / *Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement* / *Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement* (*Guangxi*), *Ministry of Agriculture, P.R. China*, Nanning 530007, China)

Abstract: In order to solve the problems of high production cost, long production cycle and slow propagation speed of sugarcane healthy seedlings, the research used Guitang 08-120 healthy seedlings as material, after tillers occurred in the original sugarcane virus-free plantlets, the main stem was cut and transplant for two times. The results showed that the survival rate of sugarcane healthy seedlings was

基金项目：广西创新驱动重大专项(AA17202042-13)；广西自然科学基金重点项目(2015GXNSFBA139011)；国家农业产业技术体系广西甘蔗创新团队专项(gjnytxgxcxtd-03)；广西农业科学院项目（2018YT01,2018YM02）[Supported by Guangxi Innovation Drive Major Special Projects(AA17202042-13); Guangxi Natural Science Foundation Key Projects (2015 GXNSFBA 139011); National Agricultural Industry Technology System Guangxi Sugar Cane Innovation Team Special(gjnytxgxcxtd-03); Guangxi Academy of Agricultural Sciences Project(2018YT01, 2018YM02)]。

作者简介：陈荣发（1986- ），女，广西合浦人，助理研究员，主要从事甘蔗生理生化、化学调控及分子生物学研究，（E-mail）389001826@qq.com。

* **通信作者**：吴建明，副研究员，主要从事甘蔗栽培及分子生物学研究，(E-mail)wujianming2004@126.com。

48.20% when the main stem was buried and 95.10%. The original seedling planting, first time cutting planting of main stem and second time cutting planting of main stem of the survival rates of transplanting were 97.67%, 96.33 and 96.00%, the number of tillers was 15, 14 and 13, the height was 157.67 cm, 127.00 cm and 123.84 cm, the diameter of stem was 25.52 mm, 25.31 mm and 25.23 mm, respectively. The effective stem number was 87 245, 97 465 and 93 960 ·hm^{-2}, the yield was 49 294.5, 52 126.00 and 49 948.50 kg ·hm^{-2}, the cost of rapid propagation of one main stem of the original seedling is about 0.47 yuan, which is significantly lower than the cost of conventional propagation of the original seedling. Respectively the first time cutting planting of main stem and second time cutting planting of main stem of the main stem was lower than the original seedling planting, but the tiller number, stem diameter, effective stem number and yield were not significantly different from that of the original seedlings. The results showed that there was no significant difference in sugarcane yield between healthy seedlings and healthy seedlings. The results of this study provide technical support for reducing the cost and accelerating the breeding speed of sugarcane healthy seedlings.

Key words: sugarcane, virus-free plantlets, field propagation, cutting transplanting

当前，我国甘蔗种茎来源主要是农民自选自留的甘蔗尾梢或糖料蔗全茎种，而甘蔗是无性繁殖作物，经多年连续无性留种种植后，多种病原物的反复侵染并在蔗株内积累，抑制甘蔗正常生长，导致优良种性退化，质量和产量不断下降，给生产造成极大的损失，严重威胁甘蔗产业安全（游建华等，2001）。甘蔗脱毒健康种苗是采用甘蔗幼嫩心叶或茎尖分生组织培养，获得的无病甘蔗植株。甘蔗脱毒健康种苗是甘蔗种苗质量保证的关键。因此，甘蔗健康种苗繁育和推广应用对于消除农民自留种具有重要意义。甘蔗脱毒健康种苗具有生长速度快、分蘖力强、成茎率高、产量高、用种量少等优点，可加速甘蔗良种的快速繁殖，解决甘蔗因用种量大而消耗大量原料蔗的问题。目前巴西、美国等国家 100%采用健康、无毒的蔗种。为了确保生产上应用甘蔗健康种苗，巴西还通过政府立法，在全国建立甘蔗脱毒健康种苗生产繁殖体系，要求生产上用的种苗必须是经过脱毒的健康种苗，蔗农不能自留蔗种，每个糖厂都必须建有自己的健康种苗生产车间和繁育基地（游建华等，2001）。而我国甘蔗健康种苗覆盖率还不到 10 %，制约的主要原因就是繁育速度慢和生产成本高两大关键问题。实际上，甘蔗健康种苗一直以来是研究的热点，研究内容涉及培养体系的优化和建立（刘家仪等，2014；陈敏敏和孙健，2015；Snyman et al., 2015; Bomfim et al., 2014; Dewanti et al., 2016; DInesh et al., 2016; Heringer et al., 2015; Sardar et al., 2016; Jamil et al., 2017; Kaur et al., 2018）、防褐化(武媛丽等，2013；杨柳等，2011； 汪淼等，2016）、瓶内和瓶外生根技术（刘丽敏等，2009；Almida et al., 2005; Hou et al., 2010; Richard et al., 2015）、间歇浸没式生物反应器(Lorenzo et al., 2001; Bernal & Machado, 2008; Mordocco et al., 2009; Yang et al., 2010 ）等方面，贯穿了切取单芽—热水处理—高温催芽—挑取茎尖—诱导培养—增殖培养—生根培养整个过程。甘蔗健康种苗田间高效繁育方面在假植练苗、移栽种植、田间管理技术等也有较多研究，并总结出了一些种植管理的经验与方法(沈万宽等，2009；杨本鹏等，2010；李恒锐，2014；蔡文伟等，2016 ），但在健康种苗田间快速繁殖技术研究方面相对薄弱，特别是对于甘蔗健康种苗降低成本和加快繁育速度两个核心问题研究较少，尚未得到很好解决。

扦插种植技术在林木(张锦春等，2018；张捷等，2019；朱佳等，2019 ）、花卉(陈怡超等，2018 ）、草业(刘青松等，2018 ）等植物上进行了相关研究，证明部分植物枝条具有生根发芽能力。因此，设想甘蔗是否可以扦插种植。早期，德宏州棉作试站开展了单芽斜放密植育苗，挖一条小沟将种苗密密地排在沟边上，芽朝上，放种的斜度 60~70°，获得成功。因此，该研究拟通过甘蔗健康种苗主茎重复扦插移栽，解决目前甘蔗健康种苗存在生产成本高、生产周期过长、繁育速度慢等问题，为降低甘蔗繁育生产成本提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

供试品种为桂糖08-120健康种苗原苗，由广西农业科学院甘蔗研究所提供。

试验于广西崇左市扶绥县双高基地进行，所有试验采取随机区组排列，重复3 次，小区为5行区，行长10 m，行距1.2 m，小区面积为60 m^2。土地进行深翻30~ 40 cm，施入基肥600~ 750 kg • hm^{-2}，移栽前3~ 5 d进行整地，按行距100~ 120 cm开植蔗沟，沟深20~ 25 cm，沟底宽15~ 20 cm，沟底平

整、细碎松土。主茎扦插试验选取基部两节伸长明显的原苗，剪下主茎，剪去主茎叶片留下靠近叶耳2~3 cm叶片，去掉干枯叶片，再将主茎放入由氯虫苯甲酰胺(50~ 200 mg • L^{-1})、烯效唑(50~ 200 mg • L^{-1}) 、咪鲜胺(200~ 500 mg • L^{-1})混合而成的浸种液中浸泡1~ 2 h，按45~ 50 cm株距移栽，密度为15 000~ 16 500株 hm^{-2}，移栽后拉上滴灌带。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

1.2.1.1 甘蔗健康种苗原苗移栽后期主茎生长情况观察

2017 年 12 月开展试验，观测原苗主茎在甘蔗脱毒健康种苗原苗生长后期的变化规律。

1.2.1.2 原苗主茎全埋种植与斜插种植试验

2018 年 2 月 7 日选择合适的主茎进行试验，全埋种植将修剪好、浸泡过浸泡液的主茎一字型、平行于行沟摆种（参照常规种茎种植），摆好后覆土盖膜；斜插种植前往种植沟内回填 3~5cm 细土，覆盖上生物降解除草地膜，用打洞器打洞后，将剪下的甘蔗健康种苗原苗主茎与行沟成 60° 斜插入洞中，斜插深度 7~10 cm，地面留长度 8~15 cm。

1.2.1.3 原苗与主茎扦插移栽试验

2018 年 5 月 6 日，将甘蔗健康种苗原苗带营养土移栽；2018 年 7 月 21 日，待甘蔗健康种苗原苗 90%发生分蘖时，进行第一次主茎扦插试验；2018 年 9 月 7 日，待第一次扦插茎 100 %发生分蘖时，剪下主茎进行第二次主茎扦插试验（移栽方法与第一次完全一致）。

1.3 指标测定方法

2018 年 3 月 30 日测定全埋种植和斜插种植试验成活率；原苗与主茎扦插移栽试验测定相关产量性状，原苗、主茎第一次扦插和主茎第二次扦插分别于 2019 年 1 月 8 日、2 月 24 日和 3 月 12 日进行测产验收，每处理随机选取 20 条甘蔗测量其茎径、株高（植株基部量起至最高可见肥厚带的高度）、有效茎数（茎长超过 1 m、茎径大于 1.5 cm 甘蔗植株数）和产量（田间按蔗种规格砍收称量的甘蔗）。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2007 和 DPS 16.05 软件进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 甘蔗健康种苗原苗移栽后期主茎生长情况

田间调查发现健康种苗移栽繁育主要是依靠分蘖成茎，而大部分主茎到后期无法成茎甚至出现死亡现象（图 1）。




图1 甘蔗健康种苗原苗移栽后期主茎生长情况

Fig.1 Main stem growth of Original healthy sugarcane seedlings at later growth stage transplanting

2.2 甘蔗健康种苗原苗主茎全埋种植和扦插种植效果比较

甘蔗主茎全埋种植和扦插种植试验结果表明（表 1），扦插成活率为 95.1%，而全埋种植植株成活为 48.2 %，成活率显著低于扦插种植；扦插单株平均分蘖数为每株 12 条，单株平均有效分蘖数为每株 8 条，而全埋种植平均分蘖数为每株 6 条，单株平均有效分蘖数为每株 5 条，有效分蘖数显著低于扦插种植；斜插种植苗长势显著优于全埋种植苗（图 2）。因此，选用扦插种植作为甘蔗健康种苗原苗主茎快速繁育的技术手段。



图2 甘蔗健康种苗剪取主茎全埋种植(左)和扦插种植（右）效果比较

Fig. 2 Comparisons of the effects of whole stem buried planting (left) and cutting planting (right) on cutting main stem of healthy sugarcane seedlings

表1 主茎全埋种植和扦插种植成活率和分蘖数

Table 1 Survival rate and Tiller number of Whole stem buried planting and Cutting planting

处理 Treatment	移栽成活率 Survival rate of transplanting (%)	单株平均分蘖数 Average number of tillers (bar)	单株平均有效分蘖 Average effective tiller (bar)
全埋种植 Whole stem buried planting	48.2a	6a	5a
斜插种植 Cutting planting	95.1b	12b	8b

注：不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different small letters mean significant differences in different treatments (P<0.05). The same below.

2.3 甘蔗健康种苗原苗主茎重复扦插快速繁育技术对甘蔗产量性状及产量的效应

扦插移栽苗的产量性状调查结果显示（图3和表2 ），主茎第一次、第二次移栽和原苗的甘蔗苗生长情况良好，移栽后基本全部成活，移栽成活率分别为97.67%、96.33% 和96%，健康种苗原苗、主茎第一次扦插移栽和主茎第二次扦插移栽的分蘖率分别为1500%、1400 %和1300%，株高分别为157.67、127.00和123.84 cm，茎径分别为25.52、25.31和25.23 mm，有效茎数分别为87 245、97 465和93 960 条・hm^{-2}，产量分别为49 294.5、52 126.00和49 948.50 kg・hm^{-2}，主茎第一次扦插移栽和第二次扦插移栽的分蘖、茎径、有效茎数和产量与原苗种植无显著差异，而株高显著低于原苗种植。说明重复扦插2次对甘蔗产量效应差别不大。



A. 原苗种植；**B**.第一次剪下主茎；**C**. 主茎扦插移栽；**D**. 第一次扦插苗生长情况；**E**. 第二次剪下主茎；**F**.第二次扦插苗生长情况。

A. Original seedling planting; **B**. First time cutting main stem; **C**. Cutting planting; **D**. First cutting planting growth; **E**. Second time cutting main stem; **F**. Second cutting planting growth.

图 3 主茎重复扦插移栽流程图

Fig. 3 Flow chart of repeated cutting and transplanting of main stem

表 2 主茎重复扦插移栽对甘蔗产量性状及产量的效应

Table 2 Effect of repeated cutting and transplanting of main stem on the yield components and yield of sugarcane

处理 Treatment	移栽成活率 Survival rate of transplanting (%)	分蘖数 Number of tillers (bar)	株高 Plant height (cm)	茎径 Stem diameter (mm)	有效茎数 Number of valid stems (bar ·hm^{-2})	产量 Production (kg ·hm^{-2})
原苗种植 Original seedling planting	97.67a	15a	157.67a	25.52a	87245a	49294.5a
主茎第一次扦插移栽 The first time cutting planting of main stem	96.33a	14a	127.00b	25.31a	97465a	52162a
主茎第二次扦插移栽 The second time cutting planting of main stem	96.00a	13a	123.84b	25.23a	93960a	49948.5a

2.4 甘蔗健康种苗原苗主茎重复扦插快速繁育技术成本核算

按健康种苗原苗市场价格每株 1 元计算，种植一株原苗的价格约为 0.1 元，原苗常规繁育成本约为一株 1.1 元；主茎第一次扦插，人工剪下一株主茎成本约为每株 0.06 元，种植一株扦插苗成本约为 0.1 元；主茎第二次扦插人工剪下一株主茎成本约为 0.06 元，种植一株扦插苗成本约为 0.10 元。原苗主茎重复扦插快繁技术每株成本约为（1.1+0.16+0.16）/3=0.47 元，比原苗常规繁育技术种植成本减少 57.27%，大幅度节约了种苗的生产成本（表 3）。

表 3 单株主茎重复扦插移栽成本

Table 3 Cost of repeated cutting and transplanting of main stem

处理 Treatment	种苗成本 Seed and seedling cost (￥)	剪下主茎人工成本 Cutting the main stem cost (￥)	种植成本 Planting cost (￥)	总成本 Total cost (￥)
原苗 Original seedling planting	1	0	0.10	1.10
主茎第一次扦插 The first time cutting planting of main stem		0.06	0.10	0.16
主茎第二次扦插 The second time cutting planting of main stem		0.06	0.10	0.16

3 讨论

3.1 甘蔗健康种苗原苗移栽后期主茎生长情况

甘蔗脱毒组培苗的主茎比原种茎和分蘖茎细小，主茎茎径变小的原因主要与光合产物的供应有关。主茎植株的光合产物除要满足自身的需要外，还要满足太多分蘖发生和生长的需要。这种光合产物分配上的“源小于库”，必然导致主茎的生长受到抑制，不仅茎径小，拨节后主茎的生长也不比分蘖茎快（曹干，1998）。适时采主茎，可以减少幼小分蘖枯死，促进分蘖的发生和增长。本实验观察到甘蔗脱毒健康种苗原苗移栽后期，原苗主茎出现了不同程度的萎缩甚至死亡，结果与前人一致。

3.2 甘蔗健康种苗原苗主茎全埋种植和扦插种植效果比较

甘蔗是无性生殖的作物，利用种茎繁育是甘蔗常规繁育手段。如果甘蔗芽眼完好而抽不出苗，主要是因为土壤中的含水量过多或蔗苗失水过度。如果土壤中的含水量大于 40%，则种苗因缺氧而不能萌发，甚至腐烂。该研究中主茎全埋种植的成活率显著低于斜插种植，可能是因为全埋种植的主茎因连带有幼嫩尾部，而盖膜和滴灌致使土壤湿度过高，主茎全埋后易腐烂，成活率低。而斜插种植因埋于土壤部分的基部是比较坚硬的部分，不易腐烂，故而成活率显著高于主茎全埋种植。

3.3 甘蔗健康种苗原苗主茎重复扦插快速繁育技术对甘蔗产量性状及产量的效应

扦插种植技术在林木上的应用已有大量报道，而德宏州棉作试站成功开展了甘蔗单芽斜放密植育苗试验，说明甘蔗蔗茎跟其他植物枝条一样具有生根发芽能力。甘蔗健康种苗蔗茎达到 1m 以上，每条茎有 10 以上的成熟侧芽，作种茎利用率高，侧芽生活力强，是繁种的最佳时期。该研究结果表明甘蔗脱毒健康种苗主茎斜插效果与原苗种植差异不大，扦插第二次仍能发挥生根发芽能力，蔗茎株高和节数均达到了种茎要求，一年内主茎可重复种植 3 次，可以分别在次年 1 月份、2 月份和 3 月份收获全茎做种，扩大了繁育基数，第一年可实现繁育速度比常规组培原苗一次移栽翻两倍，第二年使用收获的种茎繁育亦可再翻两倍。

3.4 甘蔗健康种苗原苗主茎重复扦插快速繁育技术成本核算

按现健康种苗原苗市场价格 1 元/株，每株种植人工约 0.1 元，一株原苗常规繁育成本约 1.1 元，每亩种植 1000 株种苗，不考虑其他各种因素造成部分甘蔗苗死亡的问题，原苗常规繁育成本在 16 500 元·hm^{-2}，通过主茎重复扦插快速繁育技术，一株种苗繁育成本约 0.47 元，可以控制繁育成本在 7 050 元·hm^{-2}，每公顷可节约了甘蔗健康种苗繁育生产成本 9 450 元。

4 结论

甘蔗健康种苗原苗主茎重复扦插移栽繁育技术不仅可以增加蔗种收获次数，避免不同蔗区因蔗种集中收获而导致淡旺季过度明显、后期严重缺种等问题，还因同一株原苗主茎重复扦插两次，大幅度降低了甘蔗健康种苗繁育生产成本，并通过浸种液浸泡主茎后再种植达到防虫效果，减少后期农药施用量，有利于环境保护和土壤再生，为降低甘蔗繁育生产成本和提高繁育效率提供了技术支撑，对促进甘蔗优良新品种的繁育和推广具有重要意义。

参考文献：

ALMIDA R, GONCALVES S, ROMANO A, 2005. *In vitro* micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum* L. Subsp. *baeticum* (Boissier & Reuter) Handel-Mazzetti [J]. Biodivers Conserv, 14: 1059-1069.

BERNAL A, MACHADO P, 2008. Cortegazal Priming and biopriming integrated into the sugarcane micropropagation technology by temporary Immersion Bioreactor (TIBs) [J]. Sugar Technol, 10(1): 42-47.

BOMFIM AG, ROBERSON D, AUGUSTO OR, et al., 2014. Plant regeneration and histological study of the somatic embryogenesis of sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivars RB855156 and RB72454 [J]. Acta Sci, 36: 63–72.

CAI WW, YANG BP, WU YL, et al., 2016. Study on Field Propagation Techniques for Disease-free Sugarcane Seedlings [J]. Chin J Trop Crops, 37(4): 653-659. [蔡文伟, 杨本鹏, 武媛丽, 等, 2016, 甘蔗脱毒健康种苗田间繁育技术研究 [J]. 热带作物学报, 37(4): 653-659.]

CAO G, 1998. Main Points of rapid Propagation of Sugarcane Tissue Culture Seedlings in Field[J]. Guangxi Sugar Cane, (1): 23-24. [曹干，1998，甘蔗组培苗大田快繁技术要点[J]. 广西蔗糖, (1): 23-24.]

CHEN MM, SUN J, 2015. Culture conditions optimization on shoot tip detoxification and regenerated seedlings propagation of sugarcane [J]. Acta Agric Shanghai, 31(3): 35-39. [陈敏敏, 孙建, 2015, 甘蔗茎尖脱毒及再生苗扩繁中培养条件的优化 [J]. 上海农业学报, 31(3): 35-39.]

CHEN YC, SONG XQ, ZHAO Y, et al., 2018. Effects of Substrate and Hormone on Cutting Propagation of *Rhododendron hainanense* [J]. Chin J Trop Biol, 9(3): 328-332. [陈怡超, 宋希强, 赵莹, 等，2018, 基质和激素对海南杜鹃扦插生根的影响 [J]. 热带生物学报, 9(3): 328-332.]

DEWANTI P, WIDURI LI, AINIYAT C, et al., 2016. Elimination of SCMV (sugarcane mozaik virus) and rapid propagation of virus-free sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) using somatic embryogenesis [J]. Proc Chem, 18: 96-102.

DINESH P, THIRUNAVUKKARASU P, SARANIYA AR, et al., 2015. In vitro studies of sugarcane variety Co-91017 through micropopagation of shoot tip culture [J]. Adv Plants Agric Res, 2(6): 71-76.

HERINGER AS, BARROSO T, MACEDO AF, et al., 2015. Label-free quantitative proteomics of embryogenic and non-embryogenic callus during sugarcane somatic embryogenesis [J]. Plos One, 10(6): e0127803.

LIU JY, YANG LT, LI YR, 2014. Screening of G418 Concentrations in Tissue Culture of Sugarcane ROC22 [J]. Chin Sugar Crop, (3): 9-11. [刘家仪, 杨丽涛, 李杨瑞, 2014. 甘蔗品种 ROC22 组织培养体系中 G418 的浓度筛选[J]. 中国糖料, (3): 9-11.]

LIU LM, TANG YM, LI S, et al., 2009. Rapid Propagation of Sugarcane(*Saccharrum officinarumL.*)Virus-free Seedlings by Temporary Immersion Bioreactor System [J]. SW Chin J Agric Sci, 22(4): 1038-1041. [刘丽敏, 谭裕模, 李松, 等, 2009, 利用间歇浸没式生物反应器进行甘蔗脱毒苗快繁研究[J]. 西南农业学报, 22(4): 1038-1041.]

LIU QS, XIAO Y, XU YP, et al., 2018. Effect of different treatments on the cutting survival rate of ten alfalfa varieties [J]. Chin J Grassl, 40(5): 109-113. [刘青松, 肖宇, 徐玉鹏, 等，2018， 不同处理方式对 10 个苜蓿品种扦插成活率的影响分析[J]. 中国草地学报, 40(5): 109-113.]

HOU JW, GUO SJ, WANG GY, 2010. Effects of in vitro sub-culture on the physiological characteristics of adventitious root formation in micro shoots of *Castanea mollissima* cv.'yanshanhong' [J]. J For Res, 21(2): 155-160.

JAMIL S, SHAHZAD R, TALHA GM, et al., 2017. Optimization of protocols for in vitro regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum*) [J]. Intl J Agron, 1: 2012-2021.

KAUR A, MALHOTRA PK, MANCHANDA P, et al., 2018. Micropropagation and somatic embryogenesis in sugarcane [J]. Biotechnol Crop Improv, 1: 57-91.

LI HR, 2014. Comparative trial between virus-free and non-virus free sugarcane seedling [J]. Chin Sugar Crop, (1): 42-43, 39. [李恒锐, 2014. 甘蔗脱毒与非脱毒种苗田间比较试验 [J]. 中国糖料, (1): 42-43, 39.]
LORENZO JC, GONZALEZ BL, ESCALONA M, 2001. Sugarcane shoots formation in an improved temporary immersion system [J]. Plant Cell Tissue organ Cult, 54(3): 197-200.
MORDOCCO AM, BRUMBLEY JA, LAKSHMANAN P, 2009. Development of a temporary immersion system (R ITA) for mass production of sugarcane (*Saccharum* spp. Interspecific hybrids) [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 45: 450-457.
RICHARD W, JUSTUS MO, BERNARD AN, et al., 2015. Sugarcane in vitro culture technology: Opportunities for Kenyas sugar industry [J]. Afr J Biotechnol, 47(14): 3170-3183.
SARDAR KS, SADAF TQ, IMTIAZ AK, et al., 2016. Establishment of in vitro callus in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties influenced by different auxins [J]. Afr J Biotechnol, 29(15): 1541-1553.
SHEN WK, ZHEN XW, CHEN ZH, et al., 2009. Analysis of results from sugarcane healthy seed cane trial in field [J]. SW Chin J Agric Sci, 22(4): 913-915. [沈万宽, 郑学文, 陈仲华, 等, 2009. 甘蔗健康种苗田间评价试验结果分析[J]. 西南农业学报, 22(4): 913-915.]
SUYMAN SJ, MEYER GM., KOCH AC, et al., 2011. Applications of *in vitro* culture systems for commercial sugarcane production and improvement [J]. In Vitro Cell & Dev Biol-Plant, 47(2): 234-241.
WANG M, TANG YX, YANG L, et al., 2016. Change of polyphenols in sugarcane stem tip during *in vitro* tissue culture and its relationship with browning [J]. J S Agric, 47(5): 622-626. [汪淼, 唐云仙, 杨柳, 等,2016. 甘蔗茎尖组织培养过程酚类物质变化及其与褐变的关系 [J]. 南方农业学报, 47(5): 622-626.]
WU YL, TANG XJ, ZHANG SZ, et al., 2013. Control of browning in tissue culture of sugarcane (*Saccharum officinarum L.*) [J]. Chin J Trop Biol, 4(4): 313-316. [武媛丽, 谭贤教, 张树珍, 等, 2013, 甘蔗组织培养外植体的防褐化措施 [J]. 热带生物学报, 4(4): 313-316.]
YANG L, QIN G, YANG LT, et al., 2011. Optimization of sugarcane rapid propagation in temporary immersion bioreactors system [J]. J S Chin Agric Univ, 32(1): 37-41. [杨 柳, 秦钢, 杨丽涛, 等, 2011. 利用间歇浸没式生物反应器进行甘蔗组培快繁的研究[J]. 华南农业大学学报, 32(1): 37-41.]
YANG L, ZAMBRANO Y, HU CJ, et al., 2010. Sugarcane metabolites produced in CO_2-rich temporary immersion bioreactors (TIBs) induce tomato (*Lycopersicum esculentum*) resistance against bacterial wilt(*Ralstonia solanacearum*) [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 46(6): 558-563.
YANG BP, ZHANG SZ, CAI WW, et al., 2010. Agronomic Characters of Virus-free Sugarcane Seedlings [J]. Chin J Trop Crops, 31(2): 171-175. [杨本鹏, 张树珍, 蔡文伟, 等, 2010, 甘蔗健康种苗田间栽培主要农艺性状比较 [J]. 热带作物学报, 31(2): 171-175.]
YOU JH, HE WZ, ZENG H, et al., 2001. Discussion on the application and benefits of detoxifying healthy seedlings in Guangxi sugar cane production [J]. Sugar Cane, (1): 13-17. [游建华, 何为中, 曾慧, 等, 2001. 谈脱毒健康种苗在广西甘蔗生产的应用及效益展望 [J]. 甘蔗糖业, (1): 13-17.]
ZHANG J, WANG Q, ZHONG CL, et al., 2019. Effects of growth substrate and hormones on cutting rooting of *chukrasia tabularis* young shoots [J]. Bull Bot Res, 39(3) : 380-386 [张捷, 王青, 仲崇禄, 等, 2019. 生长基质和激素对麻楝嫩枝扦插生根的影响 [J]. 植物研究, 39(3) : 380-386.]
ZHANG JC, LIU YJ, WANG FL, et al., 2018. Physiological and biochemical characteristics of *Tamarix taklamakanensis* cuttings during rooting stages [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 38(3): 484-492. [张锦春, 刘有军, 王方琳, 等, 2018. 沙生柽柳扦插生根过程插穗相关理化特征分析 [J]. 西北植物学报, 38(3): 484-492.]
ZHU J, ZHAO XJ, HUANG KD, et al., 2019. Effects of putrescine treatment on the rhizogenesis and growth of hardwood cuttings of *Betula microphylla* var. *paludosa* [J]. J For Environ, 39(3): 297-302. [朱佳, 赵小军, 黄开栋, 等, 2019. 腐胺对沼泽小叶桦硬枝扦插生根和生长的影响 [J]. 森林与环境学报, 39(3): 297-302.]